

天然多糖羧甲基化对其生物活性影响的研究进展

牛庆川,李银莉,李玉萍*

江西科技师范大学生命科学学院,南昌 330013

摘要:多糖由于具有抗氧化、抗肿瘤、调节免疫、降血糖等生物活性而受到诸多领域的关注。多糖的结构与其生物活性相关,经过化学修饰会增强其生物活性或产生新的活性。本文就天然多糖的羧甲基化修饰及其对其生物活性的影响进行综述,以为多糖的研发与应用提供理论参考。

关键词:多糖;多糖羧甲基化;生物活性;研究进展

中图分类号:Q53

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)1-0170-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.1.026

Research progress on their biological activities of carboxymethylation of natural polysaccharides

NIU Qing-chuan, LI Yin-li, LI Yu-ping*

School of life science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China

Abstract: Polysaccharides have been paid much attention in many fields on account of their biological activities for instance antioxidant, anti-tumor, immunoregulation and hypoglycemia. The structure of polysaccharides is related to its biological activity, which can be enhanced or produced by chemical modification. In this paper, the modification of carboxymethylation of natural polysaccharides and its effect on biological activity were summarized, in order to provide theoretical reference for the research, development and application of polysaccharides

Key words: polysaccharide; polysaccharide carboxymethylation; biological activity; research progress

多糖是一种结构复杂多样的重要生物大分子物质,广泛存在于动物、植物、细菌和真菌中^[1]。多年来的研究表明许多植物和真菌等来源的多糖均具有多种生物活性,如抗病毒、增强免疫、改善胃肠道功能、降血糖、抗氧化、抗肿瘤等方面的作用^[2-9]。但因天然多糖较难溶于水,限制了其生物活性的发挥。为此,国内外的许多学者对多糖进行了各种化学结构修饰,以改进其理化性状,提高其生物活性^[10,11]。目前,主要化学修饰方法包括硫酸盐法、磷酸化法、乙酰化法、羧甲基化法等,修饰后多糖的空间结构、物理和化学性质的变化,提高了多糖的生物活性,如免疫调节、降血糖、抗肿瘤、抗氧化等^[12-16]。

近年来多糖的化学分子修饰尤其是羧甲基化修饰受到人们的广泛关注,主要因为羧甲基化产物具

有良好的生物活性,特别在免疫调节、抗肿瘤方面表现优异^[17-19]。本文就近年来多糖的羧甲基化修饰及其对生物活性的影响进行阐述,期望能为多糖的研发提供理论依据和新思路。

1 多糖羧甲基化修饰

羧甲基化修饰是目前多糖改性应用最广泛的方法之一,是利用多糖与酸或羧酸衍生物的醚化反应向多糖链上引入羧甲基来实现结构的改变,羧甲基的引入可以提高多糖的水溶性以及生物活性^[20,21]。

1.1 羧甲基化修饰的方法

目前多糖常用的羧甲基化方法是先将多糖溶于NaOH溶液中碱化,再加异丙醇、氯乙酸,获得羧甲基化衍生物^[22],最后使用透析等方法除去小分子物质,得到羧甲基化多糖。其机制如图1所示。

羧甲基多糖的制备方法主要有水媒法和溶媒法2种:水媒法是先把多糖用稀碱溶液溶解(一般用多为NaOH),然后加入一定量的氯乙酸,在适当温度下进行醚化反应;溶媒法是把多糖悬于有机溶

收稿日期:2018-03-19 接受日期:2018-11-29

基金项目:国家自然科学基金(31360376);江西省自然科学基金(20132BAB205091);江西省硕士研究生创新专项(YC2018-S403)

* 通信作者 E-mail: pingyuli2013@163.com

剂(一般为异丙醇、乙醇、丙酮等)中,用碱溶液碱化后再加入氯乙酸,在适当温度下进行醚化反应,得到羧甲基化多糖。溶媒法以有机溶剂为反应介质,反应体系在碱化、醚化过程中传热、传质迅速,反应均

匀稳定,主反应快,副反应少,醚化剂利用率高;而水媒法副反应多,导致醚化剂利用率低,且后期处理困难。因此,一般采用溶媒法^[22,23]。

表1 羧甲基修饰与其他常见修饰方法的对比

Table 1 Comparison of carboxymethyl modification with other common modification methods

修饰方法 Modification method	方法 Method	优点 Advantage	缺点 Disadvantage
羧甲基修饰 Carboxymethyl modification	多采用氯乙酸法修饰,通过醚化反应在多糖上接上羧基团。	大大提高了多糖的水溶性,产生抗肿瘤活性或抗肿瘤活性显著增强。	抗氧化活性相对其他修饰方法较弱,针对个别多糖,抗氧化活性甚至不及未修饰多糖。
乙酰化修饰 Acetylation modification	使用乙酸或乙酸酐法修饰,使多糖的羧基被乙酰基团取代。	水溶性明显提高,抗菌活性及抗凝血活性增强。	针对个别多糖,抗氧化活性甚至不及未修饰多糖。
硫酸化修饰 Sulfation modification	浓硫酸法、Wolfrom 法(多用于吡喃型多糖)、Nagasawa 法(多用于呋喃型多糖)、氯磺酸-二甲基甲酰胺法,使多糖大分子链上单糖分子中的羟基被硫酸基团取代。	水溶性明显提高,抗病毒活性及抗凝血活性增强,且多数硫酸化多糖对正常细胞无毒性,是一种潜在的良好的抗凝血药物。	氯磺酸-吡啶法最为常用,然而吡啶毒性较强,同时存在反应条件不易控制,重复性不高,多糖易降解等问题。
磷酸化修饰 Phosphorylation modification	用三聚磷酸钠修饰,多糖支链上的羟基被羟基被磷酸基团取代。	水溶性明显提高,抗肿瘤及抗氧化增强。	多糖磷酸化产物结构可控性较差,使得多糖磷酸化难度较大。

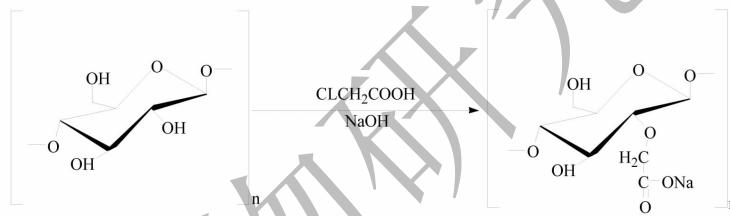


图1 多糖羧甲基化的机制

Fig. 1 Mechanism of carboxymethylation of polysaccharides

1.2 多糖羧甲基取代度对其生物活性的影响

多糖的羧甲基化被认为是一种可以改善其生物活性的方法,然而其生物活性能得到多大程度的发挥,主要看羧甲基取代度的大小。Wang 等^[24]在多糖羧甲基化修饰的研究中发现,随着取代度的增加,多糖的水溶性和生物活性也得到了较大的改善。Chen 等^[25]对灵芝多糖的羧甲基化修饰研究中发现,取代基的类型及其取代程度在多糖的生物活性中起着决定性的作用。

1.3 影响羧甲基取代度的因素

多糖羧甲基化的取代度多与碱溶液的浓度,氯乙酸的浓度,醚化反应温度有关。赵鹏等^[26]在二色补血草羧甲基修饰的研究中用响应面法对二色补血草多糖羧甲基化修饰的合成工艺条件进行优化研究,得到最优的修饰工艺条件是:反应时间 4.0 h,氯乙酸浓度 2.8 mol/L,反应温度 45 ℃,此条件下修饰制得的羧甲基化二色补血草多糖的羧甲基取代度

为 0.853,利用该方法对多糖进行羧甲基化修饰,具有可操作性强、试剂便宜易得、多糖的羧甲基化取代度较高的优点,是一种较理想的多糖羧甲基化修饰方法。孙志涛等^[27]在羧甲基化黄芪多糖的制备中,以羧甲基化取代度(Degree of substitution, DS)为指标,采用正交试验优化了黄芪多糖的羧甲基化工艺条件,得到黄芪多糖羧甲基化的最佳工艺条件:反应温度 60 ℃,反应时间 4 h,20% NaOH 溶液用量 350 mL,氯乙酸用量 65 g,在此条件下取代度大于 1.5。

2 羧甲基化修饰对多糖生物活性的影响

2.1 抗氧化活性

抗氧化性是天然多糖本身就具备的一大生物活性。多糖的抗氧化活性主要是指多糖对自由基的清除作用。自由基,可以通过多种方式与生物体内的多种分子作用,造成生物体内蛋白质和 DNA 等生物大分子的氧化损伤,导致衰老和疾病的发生。灵芝多糖在自由基清除能力上仅表现微弱,羧甲基组的

引入不仅增加了原多糖的水溶性,而且使得原多糖具有明显的清除羟基自由基(-OH)和过氧化氢(H_2O_2)的能力,这是由于改变了链构象结构特征从而提高了抗氧化活性^[28]。

张力妮等^[29]对麦冬多糖进行羧甲基化修饰,修饰后的麦冬多糖,体外抗氧化实验表明,羧甲基化的麦冬多糖在 DPPH 清除率上高于未经修饰的麦冬多糖。Yang 等^[30]对黑木耳多糖的羧甲基化修饰,得到羧甲基化多糖(*Carboxymethylated auricularia auricula polysaccharide*, CMAAP),其溶解度为 0.6 mg/mL,远高于黑木耳多糖 AAP (0.1 mg/mL)。CMAAP 纯化后得到 CMAAP22,其抗氧化活性的提高几乎是 AAP 的 2 倍,尤其是在 DPPH 和 ABTS + 的清除上。

田苏阳等^[31]通过超声波法提取当归多糖经过化学修饰后发现其在体外清除超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)自由基、DPPH 自由基和抑制 Fe^{2+} 诱发的脂质过氧化反应的能力与未修饰的多糖相比均显著增强。Liu 等^[32]在对松栉菇多糖的羧甲基化修饰中发现其抗氧化性的发挥由其对 DPPH 自由基清除活性、还原力和金属螯合活性决定。羧甲基修饰的多糖可以通过提供一个氢原子,破坏自由基链来发挥抗氧化作用,由于过氧化氢的生成需要 Fe^{2+} 离子,所以其对 Fe^{2+} 离子的螯合也可以抑制-OH 的生成。Shi 等^[33]对浒苔多糖进行羧甲基化修饰后,在体外通过测定对 DPPH 自由基、羟基和超氧阴离子自由基的清除能力,并通过测定铁的还原能力来评价羧甲基化浒苔多糖的抗氧化活性,发现与降解的多糖和粗多糖相比,羧甲基化的多糖的抗氧化活性大大提高。

2.2 降血糖活性

多糖促进胰岛增殖刺激胰岛细胞分泌胰岛素可能是其作用机制之一^[34]。2 型糖尿病(Diabetes Mellitus Type 2, T2DM)的发展经常与高血糖、胰岛素抵抗和血脂异常结合,这通常是糖尿病的发病过程和状态的重要决定因素。因此控制高血糖和高脂血症对 T2DM 的治疗有很大的意义。Wang 等^[35]通过对从粒毛盘菌 YM240 中获得的多糖(*Lachnum exo-polysaccharide*, LEP)羧甲基修饰后得到(*Carboxymethylate Lachnum exo-polysaccharide*, CLEP),用其分别喂饲 T2DM 模型小鼠,结果显示饲喂 CLEP 的糖尿病小鼠空腹血糖及血清甘油三酯水平显著降低,胰岛素敏感性显著提升,提示其羧甲基化是提高多糖的降血糖和降血脂活性的有效途径。这就表明

CLEP 可以用于控制 T2DM 患者的血糖和胰岛素抵抗。此外, α -葡萄糖苷酶是一个重要的碳水化合物水解酶。通过抑制这种酶可以延缓和降低餐后血糖水平^[36]。焦忠高^[37]在对红枣多糖进行化学修饰后,分别用修饰和未修饰的红枣多糖处理酵母 α -葡萄糖苷酶后发现:红枣多糖经羧甲基化修饰后对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用是未修饰多糖的 5 倍,且不受取代度的影响,阐释了红枣多糖降血糖相关的作用机理。

2.3 免疫调节

人体的免疫系统在防御外来病菌入侵,维持机体正常生理功能方面发挥主要作用。多糖的免疫调节主要通过两个方面起作用:一种是某些自身具有细胞毒性的多糖直接作用于病变细胞,将其杀死,达到免疫调节的作用;另一种是通过增强机体自身免疫机制,如促进 T 淋巴细胞增殖、CD4(+) / CD8(+) 比和自然杀伤细胞(Natural Killer cell, NK)细胞的活性等,来增强免疫力^[38]。

研究表明羧甲基修饰对多糖的免疫活性有正反两方面的作用。童微等^[39]在对铁皮石斛进行化学修饰,而后进行的体外细胞实验表明,与未经修饰的铁皮石斛多糖相比,硫酸化和脱乙酰化修饰的铁皮石斛多糖能够显著促进 RAW264.7 巨噬细胞的增殖($P < 0.05$)从而增强免疫活性,而羧甲基化修饰的铁皮石斛多糖极显著抑制了巨噬细胞的增殖作用($P < 0.01$),导致免疫活性的降低。韦毅铭等^[40]在对龙眼多糖的羧甲基化修饰后,通过动物体内实验研究多糖的免疫调节作用,分别连续用香菇多糖、不同剂量的龙眼多糖、对应剂量的羧甲基龙眼多糖饲喂,用环磷酰胺造模的免疫抑制小鼠,一段时间后分别测定其脾脏指数、溶菌酶(Lysozyme, LZM)、溶血素、IFN- γ 和 IL-4 含量。结果表明,阳性对照香菇多糖组、龙眼肉多糖组和羧甲基化龙眼肉多糖组均能提高免疫抑制小鼠的脾脏指数、血清中的溶血素含量以及小鼠血清中 LZM 水平,且呈现剂量依赖效应。与空白对照组比较,羧甲基化多糖组小鼠血清中的 IFN- γ 含量提升了 3 倍以上,羧甲基化多糖组小鼠血清中的 IL-4 含量显著下降,表明羧甲基修饰的多糖和未修饰的多糖对免疫抑制小鼠具有免疫调节作用,同等剂量浓度下,羧甲基修饰后的龙眼多糖的免疫调节能力优于未经修饰的多糖。江乐明等^[41]的研究也发现羧甲基化大粒车前子多糖能够显著增强树突状细胞(Dendritic cells, DC)分泌细胞

因子 IL-12p70 的功效,说明对大粒车前子多糖的羧甲基修饰可提高其免疫调节的生物活性。Jiang 等^[42]对车前子多糖进行羧甲基修饰后通过体外实验研究发现 DC 表达了较高的 MHCII、CD86 和 CD80 表面分子水平,同时引起了更强的混合淋巴细胞反应。这表明羧甲基车前子多糖可以作为一种免疫治疗剂。

2.4 抗肿瘤活性

多糖抗肿瘤研究的重点是如何进一步提高多糖的抗肿瘤活性。多糖抑制肿瘤机理,一般而言主要从以下两个方面作用:一种是多糖通过活化巨噬细胞、淋巴细胞,提高 NK 细胞和 (Lymphokine-activated Killer cell, LAK) 细胞的活性等作用提高宿主免疫功能以抗肿瘤;另一种是通过改变瘤体细胞膜的生长特性、抗突变、抗自由基、诱导分化与诱导凋亡等作用而发挥直接的抗肿瘤作用^[43]。多糖的结构修饰可以在一定程度上增强其抗肿瘤活性。羧甲基修饰后的多糖由于免疫调节作用的增强,对其抗肿瘤活性有很大的影响。而且羧甲基修饰的多糖在诱导肿瘤细胞凋亡,影响肿瘤细胞周期,增强机体抗氧化活性,激活机体免疫反应,抑制肿瘤血管生成等方面的效果更加显著^[44]。羧甲基的金樱子多糖在体外实验中,明显的表现出抑制 hepG2 细胞生长并刺激细胞凋亡^[45]。王建国^[46]通过体内体外的一系列实验,证明羧甲基化的灵芝多糖无论是在对 S180 肿瘤细胞的毒性上,还是在细胞凋亡的诱导效果上,已接近传统抗癌药物 (5-Fluorouracil, 5-fu), 且还具有毒副作用低的优势。羧甲基修饰后的玉米糠多糖,通过体外细胞培养表明,羧甲基化多糖显著抑制 A549 和 HepG-2 细胞的增殖,其抗肿瘤机制可能与 CASP3、CASP8、CASP9 和 p53 的表达升高有关,也与 Bcl-2 和 iNOS 基因的表达显著降低有关^[47]。

综上所述,天然多糖经过羧甲基修饰后,其水溶性明显提高(溶解度由原多糖的 0.1 mg/mL 提升为羧甲基多糖的 0.6 mg/mL)^[26],且在抗氧化、降血糖,免疫调节和抗肿瘤活性方面与未修饰多糖相比有更良好的表现。

3 总结与展望

天然多糖来源广泛,由于其特殊的生物活性而开辟了新的医药领域。它们的生物免疫、生物抑制、抗氧化和抗凝活性已经开始帮助人们增强体质,对抗衰老。多糖的生物活性发挥往往与其相对分子质量的大小、结构单元的构成以及糖链上所连接的化

学基团有着直接的关系,分子修饰是研究多糖结构与活性关系的重要途径。在分子修饰之后,获得了各种不同类型的结构和生物活性的衍生物。这些衍生物可提高其生物利用度和在不同生物系统中的应用^[48]。如:羧甲基化后多糖表现出更强的抗肿瘤活性,这一发现为天然多糖抗肿瘤药物的研发提供新思路。然而,羧甲基基团影响多糖生物活性的一些机制目前尚不够清楚,这就为今后的多糖结构研究提出了方向。随着多糖化学修饰方法的完善和新技术的应用,我们最终会明确具体的作用机制,从而开发更多的多糖类药物,进一步推动糖药理学的发展。

参考文献

- 1 Xie MY, et al. Research progress on structural characterization of polysaccharides from natural resources [J]. J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报), 2017, 17(3): 1-19.
- 2 Li YP, et al. Antioxidant activities of novel small-molecule polysaccharide fractions purified from *Portulaca oleracea* L. [J]. Food Sci Biotechnol, 2014, 23: 2045-2052.
- 3 Liu Y, et al. Antioxidant effects of polysaccharides from traditional Chinese medicines [J]. Mini-Rev Med Chem, 2017, 18: 1-4.
- 4 Zhao L, et al. Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* [J]. Carbohydr Polym, 2010, 80: 783-789.
- 5 Zhang M, et al. Immunomodulating activity of the polysaccharide TLH-3 from tricholomalobayense in RAW264. 7 macrophages [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 107: 2679-2685.
- 6 Nie SP, et al. Effects of natural polysaccharides on gastrointestinal function [J]. J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报), 2015, 15(5): 11-19.
- 7 Zhao R, et al. Antitumor activity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides against cervical carcinoma *in vitro* and *in vivo* [J]. Carbohydr Polym, 2013, 96: 376-383.
- 8 Liu J, et al. Structure characterisation of polysaccharides in vegetable "okra" and evaluation of hypoglycemic activity [J]. Food Chem, 2018, 242: 211-216.
- 9 Sun P, et al. Effects of *Scutellaria barbata* polysaccharide on the proliferation, apoptosis and EMT of human colon cancer HT29 Cells [J]. Carbohydr Polym, 2017, 167: 90-96.
- 10 Huang GL, et al. Chemical Modifications and biological activities of polysaccharides [J]. Curr drug targets, 2016, 17: 1799-1803.
- 11 Tang Q, et al. Progress in polysaccharide derivatization and properties [J]. Mini-Rev Med Chem, 2016, 16: 1244-1257.
- 12 Li XL, et al. Effects of different chemical modifications on the

- antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 112:675-685.
- 13 Chen F, et al. Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 112:211-216.
- 14 Ming K, et al. Effects of chrysanthemum indicum polysaccharide and its phosphate on anti-duck hepatitis a virus and alleviating hepatic injury [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 102: 813-821.
- 15 Liu Y, et al. The characterization, selenylation and antidiabetic activity of mycelial polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174:72-81.
- 16 Wang ZH, et al. Characterization, sulfated modification and bioactivity of a novel polysaccharide from *Millettia dielsiana* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 117:108-115.
- 17 Wang YF, et al. Structure characterization, modification through carboxymethylation and sulfation, and *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activities of a polysaccharide from *Lachnum* sp. [J]. *Process Biochem*, 2018, 72:177-187.
- 18 Zhang W, et al. Antioxidant and antitumour activities of exopolysaccharide from liquid-cultured *Grifola frondosa* by chemical modification [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2016, 51: 1055-1061.
- 19 Sun X, et al. Carboxylate groups play a major role in antitumor activity of *Ganoderma applanatum* polysaccharide [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 123:283-287
- 20 Xie JH. Modification of polysaccharides from cyclocarya paliurus and their biological activities [D]. Nanchang: Nanchang University (南昌大学), 2014.
- 21 Shen LH, et al. Research progress in structural modification of polysaccharide [J]. *Drug Eval Res (药物评价研究)*, 2013, 36:465-468.
- 22 Shi QD, et al. Twice alkalizaion method for preparation of carboxymethylpachyman [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 1996, 8:78-81.
- 23 Fang JH. Research progress in chemical modification methods of polysaccharide [J]. *China Pharm (中国药业)*, 2014, 23 (19):4-8.
- 24 Wang XM, et al. Carboxymethylation of polysaccharides from *Tremella fuciformis* for antioxidant and moisture-preserving activities [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72:526-530.
- 25 Chen Y, et al. Acetylation and carboxymethylation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities [J]. *Food Chem*, 2014, 156: 279-288.
- 26 Zhao P, et al. Study on carboxymethylation of polysaccharide from *Limonium bicolor* [J]. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2014, 37:1474-1478.
- 27 Sun ZT, et al. Preparation of carboxymethyl astragalus polysaccharide and its moisture retentivity [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2016, 28:1427-1433.
- 28 Xu J, et al. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities *in vitro* [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 78:227-234.
- 29 Zhang LN, et al. Study on antioxidant activity and spatial structure of ophiopogon japonicus polysaccharide with modi [J]. *J Food Sci Biotechnol (食品与生物技术学报)*, 2014, 33(1):27-33.
- 30 Yang LQ, et al. Carboxymethylation of polysaccharides from *Auricularia auricula* and their antioxidant activities *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49:1124-1130.
- 31 Tian SY, et al. Study on chemical modification and antioxidant activity of angelica sinensis polysaccharide with ult [J]. *J Plant Sci (植物科学学报)*, 2015, 33:545-553.
- 32 Liu Y, et al. Characterization of carboxymethylated polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* and their antioxidant and antibacterial activities [J]. *J Functional Foods*, 2017, 38PA:355-362.
- 33 Shi MJ, et al. Carboxymethylated degraded polysaccharides from enteromorpha prolifera: preparation and *in vitro* antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2017, 215:76-83.
- 34 Chen C, et al. Hypoglycemic effects of a fructus mori polysaccharide *in vitro* and *in vivo* [J]. *Food Funct*, 2017, 8:2523-2535.
- 35 Wang YF, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of a polysaccharide from *Lachnum* YM240 and its derivatives in mice induced by high fat diet and low dose STZ [J]. *Med Chem Commun*, 2017, 8:680-689.
- 36 Liu W, et al. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of *Sarcandra glabra* polysaccharide in type 2 diabetic mice [J]. *Food Funct*, 2014, 5:2850-2860.
- 37 Jiao ZG. Molecular modification and biological activities of *Ziziphus Jujuba* fruit polysaccharide [D]. Yangling: Northwest A&F University (西北农林科技大学), 2012.
- 38 Chi A, et al. Immunomodulating and antioxidant effects of polysaccharide conjugates from the fruits of *Ziziphus Jujube* on chronic fatigue syndrome rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 122:189-196.
- 39 Tong W, et al. Chemical modification and immunoregulatory activity of polysaccharides from *Dendrobium officinale* [J]. *Food Sci (食品科学)*, 2017, 38:155-160.
- 40 Wei YM, et al. Optimization of preparation of carboxymethylated polysaccharides from *Longan (Dimocarpus longan) Pul* [J]. *Food Sci (食品科学)*, 2017, 38:275-283.